



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

**This is to certify that the following application annexed hereto  
is a true copy from the records of the Korean Intellectual  
Property Office.**

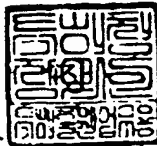
출 원 번 호 : 특허출원 2003년 제 0062418 호  
Application Number 10-2003-0062418

출 원 년 월 일 : 2003년 09월 06일  
Date of Application SEP 06, 2003

출 원 인 : 주식회사 오스코텍  
Applicant(s) OSCOTEC INC.

2004 년 9 월 13 일

특 허 청  
COMMISSIONER



Post Available Copy

	【서지사항】
종류명]	특허출원서
분리구분]	특허
수신처]	특허청장
제출일자]	2003.09.06
발명의 명칭]	삼칠근 추출물을 유효성분으로 함유하는 관절염 예방 및 치료용 조성물
발명의 영문명칭]	Composition comprising Notoginseng Radix extract for preventing and treating of arthritis as an effective component
출원인]	
【명칭】	주식회사 오스코텍
【출원인 코드】	1-1999-036103-0
제리인]	
【성명】	이원희
【대리인 코드】	9-1998-000385-9
【포괄위임등록번호】	1999-039559-1
발명자]	
【성명의 국문표기】	김정근
【성명의 영문표기】	KIM,Jung-Keun
【주민등록번호】	600220-1260117
【우편번호】	463-050
【주소】	경기도 성남시 분당구 서현동 효자촌 현대아파트 114-302
【국적】	KR
발명자]	
【성명의 국문표기】	김세원
【성명의 영문표기】	KIM,Se-Won
【주민등록번호】	580604-1267810
【우편번호】	330-090
【주소】	충청남도 천안시 성룡동 월봉 현대아파트 503-102
【국적】	KR

▶명자]	
【성명의 국문표기】	김형건
【성명의 영문표기】	KIM,Hyung-Gun
【주민등록번호】	611216-1347936
【우편번호】	135-100
【주소】	서울특별시 강남구 청담동 65 진흥아파트 5동 108호
【국적】	KR
▶명자]	
【성명】	고선일
【출원인 코드】	4-1999-057486-3
▶명자]	
【성명】	김종여
【출원인 코드】	4-1999-054584-3
▶명자]	
【성명의 국문표기】	장순화
【성명의 영문표기】	CHANG,Sunhwa
【주민등록번호】	710917-2545814
【우편번호】	330-800
【주소】	충청남도 천안시 성환읍 두진 아파트 108동 410호
【국적】	KR
▶명자]	
【성명의 국문표기】	백등현
【성명의 영문표기】	BAEK,Dong-Heon
【주민등록번호】	681109-1350412
【우편번호】	135-090
【주소】	서울특별시 강남구 삼성동 63-4
【국적】	KR
▶명자]	
【성명의 국문표기】	이병의
【성명의 영문표기】	LEE,Byung-Eui
【주민등록번호】	621104-1457211
【우편번호】	306-782

【주소】	대전광역시 대덕구 신탄진동 라이프 새여울아파트 102-106
【국적】	KR
발명자	
【성명의 국문표기】	고성희
【성명의 영문표기】	KO,Seong-Hee
【주민등록번호】	641115-2005918
【우편번호】	210-947
【주소】	강원도 강릉시 포남2동 1293-2 청송 아파트 101-802호
【국적】	KR
발명자	
【성명의 국문표기】	최영님
【성명의 영문표기】	CHOI,Youngnim
【주민등록번호】	670531-2029510
【우편번호】	110-460
【주소】	서울특별시 중로구 연건동 28 서울대학교 치과대학
【국적】	KR
발명자	
【성명의 국문표기】	정동식
【성명의 영문표기】	JUNG,Dong Sik
【주민등록번호】	720118-1177618
【우편번호】	330-260
【주소】	충청남도 천안시 신방동 성지아파트 103-1603
【국적】	KR
발명자	
【성명의 국문표기】	우희중
【성명의 영문표기】	WOO,Heejong
【주민등록번호】	700403-1411417
【우편번호】	330-769
【주소】	충청남도 천안시 신방동 향촌현대아파트 306-1807
【국적】	KR
발명자	청구

4지]	특허법 제42조의 규정에 의한 출원. 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사 를 청구합니다. 대리인		
~	이원희 (인)		
수료]			
【기본출원료】	20	면	29,000 원
【가산출원료】	10	면	10,000 원
【우선권주장료】	0	건	0 원
【심사청구료】	5	항	269,000 원
【합계】	308,000 원		
【감면사유】	소기업 (70%감면)		
【감면후 수수료】	92,400 원		
부서류]	1. 요약서·명세서(도면)_1봉 2. 소기업임을 증명하는 서류_1봉		

【요약서】

【요약】

본 발명은 삼철근 추출물을 유효성분으로 함유하는 관절염 예방 및 치료용 조성  
에 관한 것이다.

본 발명의 삼철근 추출물은 종양 괴사인자-알파 (TNF- $\alpha$ )의 유리를 억제하고, 활  
화된 T 세포만을 선택적으로 사멸시키므로, 관절염의 예방 및 치료를 위한 의약품  
는 건강식품에 유용하게 사용될 수 있다.

【표도】  
도 5

【명세서】

【발명의 명칭】

삼칠근 추출물을 유효성분으로 함유하는 관절염 예방 및 치료용 조성물  
Composition comprising Notoginseng Radix extract for preventing and treating of  
arthritis as an effective component}

【면의 간단한 설명】

- 1은 본 발명에 따른 삼칠근 추출물의 추출·분리 방법을 나타낸 도이다.
- 2는 본 발명의 삼칠근 추출물이 종양 괴사인자-알파 (TNF- $\alpha$ )의 유리 억제에 미치는 영향을 나타낸 도이다.
- 3은 본 발명의 삼칠근 추출물이 활성화된 T 세포의 선택적 세포사를 측정하는 도이다.
- 4는 본 발명의 삼칠근 추출물이 제 2형 콜라겐 유도 관절염 실험동물에서 관절염적 진행 억제 효과를 관절염 지수로 나타낸 도이다.
- 5는 본 발명의 삼칠근 추출물이 제 2형 콜라겐 유도 관절염 실험동물에서 관절염적 진행 억제 효과를 관찰한 도이다.

발명의 상세한 설명]

발명의 목적]

발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술]

본 발명은 삼칠근 추출물을 유효성분으로 함유하는 관절염 예방 및 치료용 조성  
에 관한 것이다.

관절염 관련 질환은 전세계 인구의 약 12%가 고통을 겪고 있는 대표적인 퇴행  
성 질환으로 국내에도 약 200만명 이상의 환자가 있다.

관절염은 신체의 큰 골격 및 결합 조직에 염증성 변화가 생겨 큰 골격계에 전신  
적 증상이 나타나는 것을 총칭하는 병명이다. 상기 질환은 관절, 뼈, 연골 조직 또는  
수에 영향을 주어, 종종 영구적인 조직 손상, 기형, 퇴화 및 장애를 일으키는 만성  
증을 특징으로 한다 (Hofbause, LC, Heufelder, AE: The role of osteoprotegerin  
and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand in the pathogenesis and  
treatment of rheumatoid arthritis, Arthritis and Rheumatism 44:253-259, 2001).

관절염은 퇴행성 관절염 (골 관절염), 류마티스 관절염, 관절외 류마티즘 또는  
라겐 질환으로 분류된다.

관절염 질환 중 가장 흔히 나타나는 퇴행성 관절염은 관절 연골이 닳아 없어지  
서, 국소적인 퇴행성 변화가 나타나는 질환이다. 그 원인은 불확실하나, 노쇠 현상  
나 과도한 체중과 관계가 깊은 질환으로 알려져 있으며, 이 질환에서는 일차적으로  
관절 연골의 퇴행성 변화가 나타난다. 퇴행성 변화는 관절 연골에서 시작되어 연골  
세포가 괴사하게 되고, 기질이 카텝신 B (Cathepsin B), 카텝신 D, 콜라게나제



collagenase) 등에 의해 파괴된다. 프로테오글리칸(Proteoglycan)과 콜라겐(collagen)의 생성이 파괴정도를 따라가지 못하며 외력에 대한 연골의 적응 능력은 점점 감소하여 결국 연골하골 조직에 미세 골절등의 소견이 생기게 된다. 질환이 진행되면, 연골하골의 경화, 관절 주변에 골의 과잉형성, 관절의 변형등이 발생하게 되며, 연골의 표면이 거칠어지게 되고 관절막으로 싸인 관절강 안에 염증 반응이 반복되어 나타나게 된다. 따라서, 반복적인 통증, 관절의 강직감, 관절의 점진적인 운동장애 등을 일으키게 된다.

관절염 중 류마티스 관절염은 병적 증상이 주로 가동 관절에 대칭적으로 나타나 전신성 만성 염증성 질환이며, 면역체계에 이상이 생겨 발생하는 자가 면역 질환으로 알려져 있다. 그러나 아직은 그 원인이 정확히 밝혀지지 않고 있다. 상기 질환 주변 관절의 구조적 기형을 일으키는, 연골 파괴 및 골 침식을 야기하는 지속적인 만성 활막염을 특징으로 한다. 류마티스성 관절염과 관련된 증상에는 관절 부종, 관절 압통, 염증, 조조경직 및 특히 관절을 구부릴 때의 통증이 포함된다. 관절염이 행된 단계에 있는 대상체는 골침식과 함께 관절 파괴를 비롯한 구조적 손상이 발생하게 된다(Firestein, GS: Evolving concept of rheumatoid arthritis, Nature 3:356-361, 2003). 또한, 류마티스성 관절염에 걸린 환자는 자가면역 과정과 관련된 백관염에 기인한 피부, 심장, 심장, 폐, 중추 신경계 및 눈의 손상을 비롯한 각종 장기 손상은 다른 임상적 증상이 있을 수 있다.

관절염과 관련된 다른 증상에는 적혈구 침강 속도의 증가 및 혈청 C-반응성 단백질(CRP) 또는 가용성 IL-2 수용체(IL-2r) 농도의 증가가 포함된다. 적혈구 침강 속도는 활성 류마티스성 관절염에 걸린 거의 모든 환자에서 증가된다. 혈청 C-반응성

백질의 농도 역시 증가되고 이는 질환 활성도 및 진행성 관절 손상의 가능성과 관련 있다. 또한, 활성 류마티스성 관절염에 걸린 환자의 혈청 및 활액에서 T-세포 활성화의 산물인 가용성 IL-2r의 농도도 증가된다 (Udagawa, N., Kotake, S., Kamatani, T., Takahashi, N., and Suda, T: The molecular mechanism of osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis. Arthritis Research 4:281-289, 2002).

류마티스성 관절염의 전개와 지속에 Th1 유형의 CD4+ T 세포가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 즉, CD4+ T 림프구는 인터페론-감마 (IFN- $\gamma$ ) 및 IL-17 같은 가용 물질과 CD69 같은 세포 표면 물질에 의한 신호 전달을 통해 대식 세포, 활막 세포를 자극하여 염증성 사이토카인들 (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , GM-CSF, IL-2, IL-6) 과 매트릭스 메탈로프로테아제 (matrix metalloproteinase)를 분비케한다. 이렇게 분비된 사이카인들은 활막의 증식을 촉진하여 판누스 (pannus)를 형성하고, 매트릭스 메탈로프로테아제와 함께 연골 파괴를 일으킨다. 또한 활성화된 CD4+ T 세포는 CD40L, CD28, b2 integrin 등이 매개된 세포 표면 접촉을 통해 B 세포를 활성화하여 류머티스인 (rheumatoid factor)를 포함한 항체를 생산케 한다. CD4+ T 세포는 활성화됨에 따라 표면에 osteoprotegerin ligand를 발현하여 파골 세포 생성 (osteoclastogenesis)를 촉진하여 뼈 파괴에 결정적인 역할을 한다 (Kong YY, Feige U, Sarosi I., et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. Nature 402, 304-309, 1999). 활성화된 식세포, 섬유아세포 등은 VEGF, FGF와 같은 물질을 분비하여 새 혈관 형성을 촉진. 활막 조직내의 활성화된 혈관 내피세포는 IL-8과

은 케모카인을 분비하고 부착 분자 (adhesion molecule) 발현을 유도하고 염증성 세포의 침윤을 촉진하여 염증반응의 증폭 사이클을 이룬다. 또한, 류마티스 관절염은 림프구와 항원 제시 세포 사이의 항원-비특이성 세포간 상호작용과 관련된 T-세포-개의 자가면역 질환이라 생각된다. 일반적으로, T-세포 반응의 크기는 T-세포 표면자와 그의 리간드 사이의 상호작용에 의해 유도된 동시 자극 반응에 의해 결정된다. 주된 동시 자극 신호는 T-세포 표면 수용체인 CD28 및 CTLA4와 그의 리간드, 예 들어 항원 제시 세포 상의 B7-관련 분자 CD80 (즉, B7-1) 및 CD86 (즉, B7-2) 사이의 호작용에 의해 제공된다 (Linsley, P. and Ledbetter, J.: The role of the CD28 ceptor during T cell responses to antigen. Ann. Rev. Immunol. 11:191-212, 93). 동시 자극이 없을 때의 T-세포 활성화는 면역 시스템이 자극에 대해 반응하지 않는 무력성 (anergic) T-세포 반응을 초래한다 [Schwartz, R. H.: Costimulation of T mphocytes: the role of CD28, CTLA-4, and B7/BB1 in interleukin-2 production d immunotherapy. Cell 71:1065-1068, 1992].

현재까지 관절염은 근원 치료가 불가능하며, 지금까지 개발된 치료제들은 통증 완화하고, 염증을 억제하며, 가능한 한 기능을 보전하는 방향으로 치료가 이루어고 있다. 또한, 이러한 치료제들은 전형적으로, 장기간에 걸쳐 투여되고, 장기 복시 위장계, 중추 신경계, 조혈 기관, 신장, 간 등에 부작용을 유발하는 것으로 알려져 있다 (Langenegger T, Michel BA. : Drug treatment for rheumatoid arthritis. in Orthop. 366:22-30, 1999).

이와같이, 관절염은 만성 염증성 질환과 T-세포 매개의 면역 시스템 질환으로  
거지기 때문에, 관절염의 치료를 위해서는 사이토카인의 유리를 억제시키며, 활성  
된 T 세포만을 선택적으로 사멸할 수 있는 약제의 개발이 요구되고 있다.

따라서, 본 발명자들은 생약 추출물 중에서 사이토카인의 유리를 억제시키며,  
성화된 T 세포만을 선택적으로 사멸하는 물질을 연구하던 중, 삼칠근 추출물에서  
러한 작용이 있음을 발견하고 본 발명을 완성하였다.

#### [발명이 이루고자 하는 기술적 과제]

본 발명은 삼칠근 추출물을 유효성분으로 함유하는 관절염 예방 및 치료용 조성  
을 제공하고자 한다.

#### [발명의 구성]

본 발명은 삼칠근 추출물을 유효성분으로 함유하는 관절염 예방 및 치료용 조성  
을 제공한다.

본 발명의 조성물은 관절염 예방 및 치료용 약학 조성물 및 건강식품 조성물을  
함한다.

본 발명의 삼칠근 추출물은 종양 괴사인자-알파 (TNF- $\alpha$ )의 유리를 억제하며, 활  
화된 T 세포를 선택적으로 사멸시키므로, 관절염의 예방 및 치료를 위한 의약품 또  
건강식품에 유용하게 사용될 수 있다.

이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.

삼칠근(학명 *Panax notoginseng*(Burk.) F. H. Chen)은 드릅나무과의 다년생초본로 인삼보다 작고 측잎이 7개이며 뿌리는 작은 실뿔모양의 형태를 하고 있으며, 주 중국 남부 운남 사천 등에서 재배된다. 상기 식물은 세 개의 가지에 7개의 잎이 있다 하여 삼칠, 그 모양이 조선인삼과 비슷하여 삼칠인삼이라 불리기도 한다. 뿌리는 3-8%의 사포닌이 있는데 그 주성분은 진세노시드(ginsenoside) Rb1, Rg1, Re, 노토진세노시드(notoginsenoside) R1, R2, Fa, Fc 등이며 적은 량의 진세노시드(ginsenoside) R2, b2, d, e, c가 있고 RO는 없거나 매우 적게 함유되어 있다. 경유 조성성분은 인삼보다 적으며 올레아놀산 등도 함유되어 있다. 뿌리는 지혈작용, 심작용이 있으며 동물실험에서 심장동맥의 혈류량을 늘리고 심근의 산소소비량을 이며 혈액내의 지질과 콜레스테롤 함량을 줄이는 효능이 있는 것으로 밝혀졌다. 또 삼칠근은 우수한 소염, 진통, 지혈작용이 있어서 간염을 비롯한 많은 염증질환에 효할 뿐 아니라 외상, 결상으로 생긴 출혈과 내출혈에 유효하며, 상처에 직접 바르나 먹어도 효과가 있다.

본 발명의 삼칠근 추출물은, 삼칠근을 물, 알콜 또는 물과 알콜의 혼합용매로 추출한다. 상기 알콜은 에탄올이 바람직하다.

추출방법은 상기 용매를 사용하여 냉침, 온침, 가열 등 통상의 추출방법이 가능하다.

본 발명의 삼칠근 추출물은 종양 괴사인자-알파(TNF- $\alpha$ )의 유리를 억제하므로, 결염의 예방 및 치료에 유용한 의약품이나 건강식품으로 이용될 수 있다.

본 발명의 삼칠근 추출물이 종양 괴사인자-알파(TNF- $\alpha$ ) 유리에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 사람단핵세포주(Human monocytic cell line)인 THP-1 세포를 이용

여 리포폴리사카라이드 (lipopolysaccharide: LPS) 와 본 발명의 삼칠근 추출물을 2  
는 10  $\mu\text{l}/\text{ml}$  농도로 처리한 후, 세포 배양액 안의 종양 괴사인자-알파 (TNF- $\alpha$ ) 의  
리량을 효소면역 측정법 (ELISA) 으로 측정하였다. 그 결과, 본 발명의 삼칠근 추출  
은 10 $\mu\text{l}/\text{ml}$  농도로 처리한 경우에 종양 괴사인자-알파 (TNF- $\alpha$ ) 의 유리량을 현저히  
억제한다 (실험예 1 참조).

또한, 본 발명의 삼칠근 추출물은 활성화된 T 세포만을 선택적으로 사멸시킴  
으로써, 관절염의 예방 및 치료에 유용한 의약품이나 건강식품으로 이용될 수 있다.

본 발명의 삼칠근 추출물이 활성화된 T 세포만을 선택적으로 사멸시키는지 확인  
기 위하여, 5주된 암컷 쥐의 림프절을 격출하여 세포를 으깨어 추출한 후, 배양시  
세포만을 활성화시키고, 활성화된 T-림프구의 세포사를 측정하였다. 그 결과, 본  
발명의 삼칠근 추출물은 5 $\mu\text{l}/\text{ml}$  이상의 고농도로 처리하였을 때, 비활성화된 T 세포  
사멸에는 영향을 주지 않으며, 활성화된 T 세포만을 선택적으로 사멸시킨다 (실험  
예 2 참조).

또한, 본 발명의 삼칠근 추출물은 제 2형 골라겐 유도 관절염 실험동물에서 관  
절염의 병적 진행을 억제한다.

본 발명의 삼칠근 추출물의 관절염 치료 효과를 알아보기 위하여, 골라겐 현탁  
을 마우스의 미근부 피하 내에 주사하여 관절염을 발병시킨다. 관절염이 발병된 마  
스에 본 발명의 삼칠근 추출물을 경구투여하고 관찰한다. 경구 투여 후 9일째부터  
관절염의 병적 진행이 현저하게 억제됨을 관찰하였다 (실험예 3 참조).

•

본 발명의 조성물은 상기 삼칠근 추출물에 추가로 동일 또는 유사한 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.

본 발명의 조성물은 상기 삼칠근 추출물에 추가로 다른 기능을 나타내는 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.

본 발명의 조성물은, 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약제적으로 허용 가능한 담체들 1종 이상 포함하여 제조할 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 덱스트로즈 용액, 말토 덱스틴 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분을 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 종상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 제면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 피립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 당분야의 적절한 방법으로 또는 Remington's Pharmaceutical ience(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다. 또한 관절염 방 또는 치료제로서의 효능 증진을 위해 칼슘이나 비타민 D<sub>3</sub>를 첨가할 수 있다.

본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 비경구 투여(예들 들어 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)하거나 경구 투여할 수 있으며, 투여량은 환자의 중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도에 따라 그 범위가 다양하다. 일일 투여량은 본 발명의 삼칠근 추출물이 0.1~10 mg 이고, 바람직하게는 0.1~3mg/kg이며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여하는 것 더욱 바람직하다.

본 발명의 삼칠근 추출물을 마우스에 경구 투여시 독성 실험을 수행한 결과, 경구 투여시 독성 실험에 의한 50% 치사량 (LD<sub>50</sub>)은 적어도 2g/kg 이상인 것으로 나타나 안전한 투여량으로 판명되었다.

본 발명의 조성물은 관절염의 예방 및 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 방사선 치료, 호르몬 치료, 화학 치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

본 발명의 조성물은 관절염에 기인하는 질환의 개선을 목적으로 건강식품에 첨가될 수 있다. 본 발명의 삼칠근 추출물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 삼칠근 추출물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 사용 목적 (예방, 건강 또는 치료적 치치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에는 본 발명의 삼칠근 추출물이 원료에 대하여 100 중량% 이하, 바람직하게는 50 중량% 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이상일 수 있으며, 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 견류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 건강식품을 모두 포함한다.



본 발명의 건강음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연  
수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물은 포도당, 과  
과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스 및 같은 디사카라이드, 및 덱스트린, 사  
클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알  
이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아  
파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본  
발명의 조성물 100㎖당 일반적으로 약 0.1~20g, 바람직하게는 약 1~10g 이다.

상기 외에 본 발명의 조성물은 여러가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색  
제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조  
제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유  
할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물은 천연 과일주스, 과일주스 음료 및 야채 음료  
제조에 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사  
용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 크게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100  
당부 당 0.05-50 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예 및 실험예를 제시한다.  
그러나 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는  
일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

**실시예 : 삼철근 추출물의 제조**

삼칠근은 재배산으로 시중의 견제상에서 구입하여 사용하였다.

## 1. 삼칠근 조추출물의 제조

### 1) 삼칠근 알콜 조추출물

삼칠근을 1-2cm의 크기로 절편한 다음, 흐르는 물에 세척하여 불순물을 제거한다. 절편한 삼칠근을 분말로 분쇄하여 분말 200g을 3ℓ 플라스크에 넣고, 에탄올 1000ml을 이용하여 78.5℃에서 환류 교반시키면서 4시간 동안 가열 추출을 3회 반복 실시하였다. 상기 추출액을 여과한 후, 40℃ 이하에서 회전식 진공농축증발기 (vacuum rotary evaporator)를 사용하여 진공 감압농축시킴으로써 삼칠근 분말 2.7 g 포함된 삼칠근 조추출물을 수득하였다 (RF1M) (삼칠근 분말에 대한 수율 : 1.35%).

### 2) 삼칠근 수 조추출물

추출용매로 에탄올 대신 물을 사용한 것을 제외하고, 상기 1)의 추출방법과 동일하게 추출하였다.

### 3) 삼칠근 혼합용매 조추출물

추출용매로 에탄올 대신 물 25% 와 에탄올 75%의 혼합용매를 사용한 것을 제외하고, 상기 1)의 추출방법과 동일하게 추출하였다.

## 2. 삼칠근 조추출물의 분리

상기 1의 1)에서 얻어진 조추출물(RF1M)을 추가적으로 상온에서 노말 부탄올(*n*-butanol) 500 ml로 분획용 깔대기틀 사용하여 3회 반복 용매 분획하여 분획을 얻었다(RF1MB).

이 RF1MB 분획을 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 RF1MB4 분획을 분리하였다. 기 RF1MB4 분획에 대하여 추가적으로 컬럼 크로마토 그래피를 수행하여 삼칠근 추출물의 최종 분획을 얻었다(RF1MB4b).

본 발명에 따른 삼칠근 추출물의 추출·분리 방법은 도 1에 나타내었다.

이하의 실험예에서는 삼칠근 추출물의 최종 분획(RF1MB4b)을 농축하여 등걸건조 후, 물에 희석시켜 시험관 내(*in vitro*) 및 동물 실험을 수행하였다.

**실험예 1** : 본 발명의 삼칠근 추출물에 의한 종양 괴사인자-알파(TNF- $\alpha$ )의 유리 억제 실험

본 발명의 삼칠근 추출물이 사람단핵세포주(Human monocytic cell line)인 P-1 세포에서 유리되는 사이토카인인 종양 괴사인자-알파(TNF- $\alpha$ )의 유리 억제에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 하기와 같은 실험을 실시하였다.

#### 1. 세포의 선별 및 세포 배양

하기의 세포를 사용하여 상기 실시예에서 제조한 삼칠근 추출물이 사람의 종양 괴사인자-알파(TNF- $\alpha$ ) 유리에 미치는 영향을 평가하였다.

사람에서 유래된 세포주인 THP-1 세포 (ATCC No. TIB-202)를 ATCC (Rockville, MD)에서 구입하여 RPMI 1640 (Gibco, BRL, USA)에 10% FBS (fetal bovine serum)를 첨가한 배지에서 배양한 후 실험에 사용하였다.

## 2. 종양괴사인자-알파 (TNF- $\alpha$ )의 유리량 측정

본 발명의 삼칠근 추출물 (RF1MB4b)이 종양괴사인자-알파 (TNF- $\alpha$ ) 유리에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 상기 1에서 준비한 세포를 이용하여 종양 괴사인자-알파 (TNF- $\alpha$ )의 유리량을 효소면역 측정법 (ELISA)으로 측정하였다.

96-웰 플레이트 (well plate)에  $1\text{ml}$ 당  $5 \times 10^5$ 개가 되도록 세포를 분주하고, 리포폴사카라이드 (lipopolysaccharide: LPS)를 첨가하여 종양 괴사인자-알파 (TNF- $\alpha$ )가 유리되도록 세포를 활성화시켰다.

LPS와 동시에 실험군에는 상기 실시예에서 제조한 삼칠근 추출물 (RF1MB4b)을 2는  $10\text{ }\mu\text{g/ml}$  농도로 처리하였고, 처리 후 세포 배양액 안의 종양괴사인자-알파의 유리량을 효소면역 측정법 (ELISA)으로 측정하였다.

결과는 도 2에 나타내었다.

도 2에 나타난 바와 같이, 본 발명의 삼칠근 추출물 (RF1MB4b)을 낮은 농도 ( $2\text{ }\mu\text{g/ml}$ )에서 처리한 경우에는 삼칠근 추출물을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 종양괴사인자-알파 (TNF- $\alpha$ )의 유리량이 약간의 차이가 있었으나, 본 발명의 삼칠근 추출물 (RF1MB4b)을  $10\text{ }\mu\text{g/ml}$  농도에서 처리한 경우는 대조군에 비하여 종양 괴사인자-알파 (TNF- $\alpha$ )의 유리량이 현저히 억제되었음을 확인하였다.

따라서, 본 발명의 삼칠근 추출물이 종양괴사인자-알파 (TNF- $\alpha$ )의 유리됨 억제  
을 알 수 있다.

**실험예 2 : 본 발명의 삼칠근 추출물에 의한 활성화된 T 세포의 선택적 세  
사멸 실험**

본 발명의 삼칠근 추출물이 활성화된 T 세포만을 선택적으로 사멸시킬 수 있는  
를 확인하기 위하여, 다음과 같은 실험을 수행하였다.

1. T 세포의 분리 및 활성화
- 5주된 암컷 쥐의 림프절을 적출하여 멸균된 주사기 뒤끝으로 으깨 세포를 추출  
였다. 세포여과기 (Falcon, NJ USA)를 통과시킨 단일 세포들을 PBS로 세척한 후,  
 $4 \times 10^6$  cell/ml로 배양액에 넣었다. 배양액은 RPMI 1640 (Gibco, BRL, USA)에  
S(fetal bovine serum)를 10% 첨가해 사용하였다.
- 배양 시 T 세포만을 활성화시키기 위해 콘카나발린 A (concanavalin A)를  $5 \mu\text{g}/$   
넣어준 후 48시간 배양하였다. 세포를 배양한지 48시간 후 메틸-알파-D-만노피라  
사이드 (Methyl- $\alpha$ -D-Mannopyranoside, sigma, Germany)  $10\text{mg}/\text{ml}$ 을 넣고 30분간 배  
시켰다. PBS로 3회 세척한 후 사람 인터루킨-2 (human Interleukine-2: hIL-2, R&  
MN, USA)  $100 \text{ unit}/\text{ml}$ 을 첨가시킨 배양액에서 세포수가  $2 \times 10^6$  cell/ml이 되게 유  
한 후 48시간 배양하였다 (Lenardo MJ. et al. : Interleukin-2 programs mouse  
pha beta T lymphocytes for apoptosis. Nature. 353 (6347):858-61. 1991).

2. 활성화된 T 세포의 선택적 세포사 측정

활성화된 T 세포를  $1 \times 10^6$  cell/ml로 맞춰 96 웰 플레이트 (Falcon, USA)에  $200 \mu\text{l}$  넣고, 이 때 hIL-2 100 unit/ml을 같이 넣어 주었다.

대조군으로는 삼칠근 추출물을 넣지 않은 것을 사용하였으며, 실험군에는 상기 시에에서 제조한 삼칠근 추출물의 최종분획 (RFMB4b)을 농도별 ( $5 \mu\text{g/ml}$ ,  $10 \mu\text{g/ml}$ ,  $15 \mu\text{g/ml}$ )로 넣고 24시간동안 배양하였다.

대조군으로 활성이 안된 세포는 다음과 같이 준비하였다.

비장에서 추출한 단일세포를  $2 \times 10^6$  cell/ml로 맞추고 96 웰 플레이트에  $200 \mu\text{l}$  분주한 후, 활성시킨 세포와 동일하게 상기 시에에서 제조한 삼칠근 추출물을 넣고 24시간동안 배양하여 준비하였다. 24시간 후 흐름관에 옮긴 다음 프로피디움 아오다이드 (Propidium Iodide; PI)를 넣고 유세포분석기 (FACSCaliver, Becton ckinson, France)의 CellQuest program을 사용해 살아있는 세포수를 20초간 측정하였다.

세포사의 계산은  $(1 - F \text{ 추출물 처리 세포수} / \text{미처리 세포수}) \times 100$  으로 계산하였. 이 방법으로 후보 약물의 검색과정을 통해 활성화된 T 세포의 세포사율은 높고, 성이 안된 비감작 (naive) T 세포의 세포사율은 낮은 효과적인 약물을 선택하였다 abapathy K, Hu Y, Kallunki T, Schreiber M, David JP, Jochum W, Wagner EF, rin M. : JNK2 is required for efficient T-cell activation and apoptosis but t for normal lymphocyte development. Curr Biol. 11:9 (3):116-25. 1999 ).

결과는 도 3에 나타내었다.

도 3에 나타난 바와 같이, 본 발명의 삼칠근 추출물을 5 $\mu$ l/ml 이상의 고농도로 처리하였을 때, 비활성화된 T 세포의 사멸에는 영향을 주지 않았으며, 활성화된 T 세포만을 선택적으로 사멸시킴을 확인하였다.

따라서, 본 발명의 삼칠근 추출물은 농도에 따라 활성화된 T 세포를 선택적으로 사멸하는 효과가 있음을 알 수 있다.

**실험예 3** : 본 발명의 삼칠근 추출물에 의한 제 2형 콜라겐 유도 관절염 실험동물에서 관절염 병적 진행 억제 효과

본 발명의 삼칠근 추출물이 제 2형 콜라겐 유도 관절염 실험동물에서 관절염 병적 진행 억제 효과가 있는지 확인하기 위하여, 다음과 같은 실험을 수행하였다.

#### 1. 실험동물의 관절염 유도

제 2형 콜라겐 유도 관절염 실험 동물을 만들기 위하여, 5-6주령의 수컷 DBA1 유스틀 일본의 SCL 사로부터 구입하였으며, 마우스는 온도 21℃, 습도 40%의 조건에서 사육하였다.

소의 제 2형 콜라겐 (일본, 콘드렉스 사)을 0.05% 초산에 2mg/ml의 농도로 용해 후 소의 제 2형 콜라겐을 등량의 complete adjuvant (일본, 콘드렉스 社)와 었다. 일음으로 냉각하면서 3ml 주사기에 연결된 T-연결기를 이용하여 균질한 현탁

을 만들었다. 현탁액이 잘 만들어졌는지를 확인한 후, 마우스의 미근 부분을 알콜으로 소독하고 미근부의 피하 내에 콜라겐 현탁액 100 $\mu$ l를 주사하였다.

2. 본 발명의 삼칠근 추출물 (RF1MB4b)의 경구 투여

상기 실시예에서 제조한 삼칠근 추출물 (RF1MB4b)을 물로 녹여서 2.5 mg/ml로 만들었으며, 0.25  $\mu$ M 필터 (filter)를 이용하여 여과하여 제조하였다.

상기 제조액을 0.2 mg/ml로 희석하여 매일 1회씩 1ml 주사기에 존대틀 연결하여 마우스의 입으로 직접 0.05mg/250 $\mu$ l/마리로 투여하였다.

3. 관절염의 병적 진행 여부 관찰 : 육안 관찰 및 측정

본 발명의 삼칠근 추출물 (RF1MB4b)의 관절염 치료 효과를 알아보기 위하여, 콜라겐 현탁액을 주사하여 관절염이 발병한 관절염 질환 동물에 상기 실시예에서 제조한 삼칠근 추출물 (RF1MB4b)을 상기 2와 동일한 방법으로 투여하였다.

콜라겐 현탁액을 주사한 마우스의 관절염의 발병은 주사일로부터 30일경부터 발하는 것으로 알려져 있다. 관절염 병변의 육안적 관찰은 참고 문헌에 근거하여 다음과 같은 스코어를 사용하여 실시하였다.

0 : 종창 및 발적이 없음, 1 : 관절의 경미한 발적 및 종창, 2 : 관절부 발적 및 종창이 뚜렷함, 3 : 지관절을 포함하여 발적, 종창의 정도가 심함, 4 : 관절의 부위에 걸쳐 종창이 극심함.



따라서, 관절염의 최고 스코어는 마우스 한 마리 당 좌우의 전, 후지를 합한  
16이며, 다리 하나 당 스코어는 4가 최고 스코어이다 (Courtenay JS, Dallman MJ,  
yan AD, et al. : Immunisation against heterologous type II collagen induces  
thrititis in mice, Nature 283: 666-668, 1980).

본 발명의 삼칠근 추출물을 제 2형 콜라겐 유도 관절염 실험 동물에 경구 투여  
후 관절염의 병적 진행을 억제하는 치료 효과 결과는 도 4와 도 5에 나타내었다.

도 4는 본 발명의 삼칠근 추출물이 제 2형 콜라겐 유도 관절염 실험동물에서 관  
염 병적 진행 억제 효과를 관절염 지수로 나타낸 것이며, 도 5는 본 발명의 삼칠근  
추출물이 제 2형 콜라겐 유도 관절염 실험동물에서 관절염 병적 진행 억제 효과를  
타낸 도이다.

도 4에 나타난 바와 같이, 본 발명의 삼칠근 추출물을 제 2형 콜라겐 유도 관절  
염이 발병한 마우스에 경구 투여한 경우, 대조군에 비하여 9일부터 관절염의 병적  
행이 현저하게 억제되었다.

또한, 도 5에 나타난 바와 같이, 삼칠근 추출물을 포함하지 않은 대조군과 삼칠  
근 추출물을 포함한 실험군을 제 2형 콜라겐 유도 관절염이 발병한 마우스에 경구투  
하고 관찰한 결과, 21일이 경과한 후 현저한 차이가 나타났다. 대조군을 투여한  
마우스는 관절의 전부위에 걸쳐 종창이 극심함을 보였고, 실험군을 투여한 마우스는  
관절의 경미한 발적과 종창이 나타남을 확인하였다.

따라서, 본 발명의 삼칠근 추출물이 관절염의 병적 진행을 효과적으로 억제 함  
할 수 있다.

· **실험예 3** : 본 발명의 삼칠근 추출물에 의한 급성독성 시험

본 발명의 삼칠근 추출물은 식품원료로 분류되어 있어 안정성에 문제가 없을 것으로 판단되나, 치료제로서 임상적으로 활용하기 위하여 하기와 같은 방법으로 급성성실험을 하였다.

실험동물로 6주령의 특정병원부재 (SPF) 마우스를 실험군당 5마리씩 사용하였으며, 상기 실시예에서 제조한 삼칠근 추출물 (RF1MB4b)을 증류수에 용해시켜 2, 1, 0.5 kg의 용량으로 랫트에 단회 경구 투여하였다.

시험물질 투여후 동물의 폐사여부, 임상증상, 체중변화를 관찰하고 혈액학적 검사와 혈액생화학적 검사를 실시하였으며, 부검하여 육안으로 복강장기와 흉강장기의 상여부를 관찰하였다.

시험결과, 본 발명의 삼칠근 추출물을 투여한 모든 동물에서 특기할 만한 임상상이나 폐사된 동물은 없었으며, 체중변화, 혈액검사, 혈액생화학 검사, 부검조건에서도 독성변화는 관찰되지 않았다.

이상의 결과 본 발명의 삼칠근 추출물 (RF1MB4b)은 마우스에서 2 g/kg까지 독성화를 나타내지 않았으며, 경구투여 최소 치사량 (LD<sub>50</sub>)은 2 g/kg 이상인 안전한 물로 판단되었다.

하기에 본 발명의 조성물을 위한 제제예를 예시한다.

**제제예 1** : 약학적 제제의 제조

1. 산제의 제조

삼칠근 추출물	2g
유당	1g

상기의 성분을 혼합하고 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

2. 경제의 제조

삼칠근 추출물	100mg
옥수수전분	100mg
유 당	100mg
스테아린산 마그네슘	2mg

상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 경제의 제조방법에 따라서 타정하여 경제를 조하였다.

3. 캡슐제의 제조

삼칠근 추출물	100mg
옥수수전분	100mg
유 당	100mg
스테아린산 마그네슘	2mg

상기의 성분을 혼합한 후, 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 전하여 캡슐제를 제조하였다.

## 제제예 2 : 식품의 제조

본 발명의 삼칠근 추출물을 포함하는 식품들을 다음과 같이 제조하였다.

### 1. 조리용 양념의 제조

본 발명의 삼칠근 추출물 20 ~ 95 중량%로 건강 증진용 조리용 양념을 제조하였

### 2. 토마토 케찹 및 소스의 제조

본 발명의 삼칠근 추출물 0.2 ~ 1.0 중량%를 토마토 케찹 또는 소스에 첨가하여

1강 증진용 토마토 케찹 또는 소스를 제조하였다.

### 3. 밀가루 식품의 제조

본 발명의 삼칠근 추출물 0.5 ~ 5.0 중량%를 밀가루에 첨가하고, 이 혼합물을

용하여 빵, 케이크, 쿠키, 크래커 및 면류를 제조하여 건강 증진용 식품을 제조하  
다.

### 4. 스프 및 육즙 (grovies)의 제조

본 발명의 삼칠근 추출물 0.1 ~ 5.0 중량%를 스프 및 육즙에 첨가하여 건강 증

용 육가공 제품, 면류의 수프 및 육즙을 제조하였다.

5. 그라운드 비프 (ground beef)의 제조

본 발명의 삼칠근 추출물 10 중량%를 그라운드 비프에 첨가하여 건강 증진용 그라운드 비프를 제조하였다.

6. 유제품 (dairy products)의 제조

본 발명의 삼칠근 추출물 5 ~ 10 중량%를 우유에 첨가하고, 상기 우유를 이용하 버터 및 아이스크림과 같은 다양한 유제품을 제조하였다.

7. 산식의 제조

현미, 보리, 찹쌀, 율무를 공지의 방법으로 알파화시켜 건조시킨 것을 배전한 분쇄기로 입도 60메쉬의 분말로 제조하였다.

검정콩, 검정깨, 들깨도 공지의 방법으로 찌서 건조시킨 것을 배전한 후 분쇄기 입도 60메쉬의 분말로 제조하였다.

본 발명의 삼칠근 추출물을 진공 농축기에서 감압·농축하고, 분무, 열풍건조기 건조하여 얻은 건조물을 분쇄기로 입도 60메쉬로 분쇄하여 건조분말을 얻었다.

상기에서 제조한 곡물류, 종실류 및 삼칠근 추출물의 건조분말을 다음의 비율로 혼합하여 제조하였다.

곡물류 (현미 30중량%, 율무 15중량%, 보리 20중량%),

종실류 (들깨 7중량%, 검정콩 8중량%, 검정깨 7중량%),

- 삼칠근 추출물의 건조분말 (3 중량%),
- 영지 (0.5중량%),
- 지황 (0.5중량%)

### 제제예 3 : 음료의 제조

#### 1. 탄산음료의 제조

설탕 5~10%, 구연산 0.05~0.3%, 카라멜 0.005~0.02%, 비타민 C 0.1~1%의 첨가물 혼합하고, 여기에 78~94%의 경제수를 섞어서 시럽을 만들고, 상기 시럽을 85~98℃서 20~180초간 살균하여 냉각수와 1:4의 비율로 혼합한 다음 탄산가스를 0.5~0.82% 주입하여 본 발명의 삼칠근 추출물을 함유하는 탄산음료를 제조하였다.

#### 2. 건강음료의 제조

액상과당 (0.5%), 올리고당 (2%), 설탕 (2%), 식염 (0.5%), 물 (75%)과 같은 부재료 삼칠근 추출물을 균질하게 배합하여 순간 살균을 한 후 이들 유리병, 패트병 등 포장 용기에 포장하여 건강음료를 제조하였다.

#### 3. 아채쥬스의 제조

본 발명의 삼칠근 추출물 5g을 토마토 또는 당근 쥬스 1,000㎖에 가하여 건강 진용 아채쥬스를 제조하였다.

#### 4. 과일주스의 제조

본 발명의 삼칠근 추출물 1g을 사과 또는 포도 주스 1,000ml에 가하여 건강 증용 과일주스를 제조하였다.

#### 발명의 효과]

본 발명의 삼칠근 추출물은 종양 괴사인자-알파 (TNF- $\alpha$ )의 유리를 억제하고, 활성화된 T 세포만을 선택적으로 사멸시키는 효과가 있다.

따라서, 본 발명의 삼칠근 추출물은 관절염의 예방 및 치료를 위한 의약 또는 건강식품에 유용하게 사용될 수 있다.

특허청구범위]

1항 1]

삼칠근 추출물을 유효성분으로 함유하는 관절염 예방 및 치료용 조성물.

2항 2]

제 1항에 있어서, 삼칠근 추출물은 물, 알콜 또는 물과 알콜의 혼합용매로 추출  
는 것을 특징으로 하는 관절염 예방 및 치료용 조성물.

3항 3]

제 2항에 있어서, 상기 알콜은 에탄올인 것을 특징으로 하는 관절염 예방 및 치  
용 조성물.

4항 4]

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항의 조성물을 함유하는 관절염 예방 및 치료용  
약 조성물.

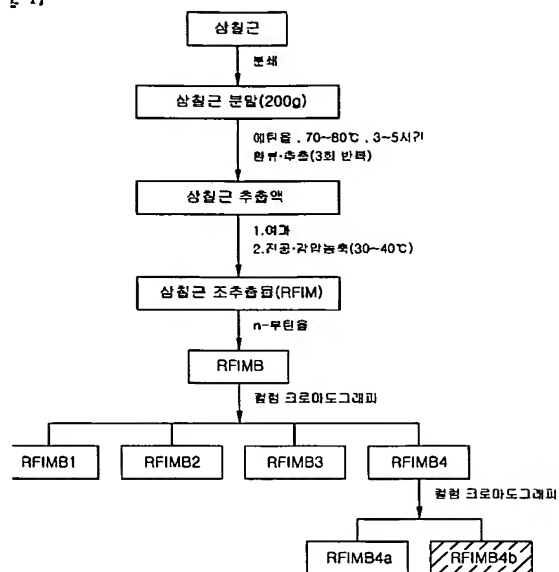
5항 5]

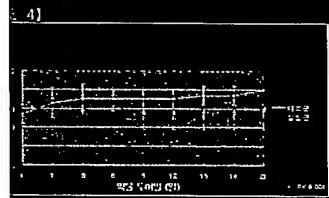
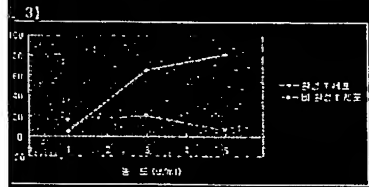
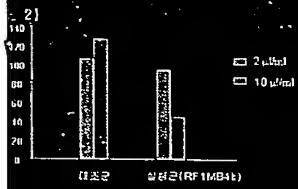
제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항의 조성물을 함유하는 관절염 예방 및 치료용  
강식품 조성물.



【도면】

도 1)





상설근 주출물 표본군수를 부여하지 않은 2차 집락은 유도군집인 상설근



작물 부여전 0일



작물 부여후 21일

상설근 주출물 표본군수를 부여한 2차 집락은 유도군집인 상설근



작물 부여전 0일



작물 부여후 21일

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/KR04/002255

International filing date: 06 September 2004 (06.09.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: KR  
Number: 10-2003-0062418  
Filing date: 06 September 2003 (06.09.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 13 September 2004 (13.09.2004)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER: \_\_\_\_\_**

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**